Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

تأثیر همزیستی اندوفایت نئوتیفودیوم بر رشد، جذب نیکل و رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو ژنوتیپ از فسکیوی بلند (*Festuca arundinace*)

زهرا میرزاحسینی[۱]، لیلا شبانی*[۱]، محمد رضا سبزعلیان[۲]، مجید شریفی تهرانی[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد و [۲]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶ ۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۶/۲)

چکیده:

آلودگی خاک به فلزات سنگین از مهمترین مسائل زیست محیطی است که بر سلامت محصولات کشاورزی و در نتیجه انسان اثرات سوء گذاشته است. قارچ‌های اندوفایت گروهی از قارچ‌ها هستند که تمام دوره زندگی خود را در بخش‌های هوایی گیاهان میزبان می‌گذرانند بدون اینکه علائم بیماری را در گیاه ایجاد کنند. این قارچ‌ها سبب ایجاد مقاومت بیشتر گیاهان میزبان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شوند. در این پژوهش دو ژنوتیپ از گیاه فسکیوی بلند (B ۷۵ و ۷۵C) به دو صورت آلوده به قارچ اندوفایت (E^+) و بدون قارچ (E^-) در خاک‌های آلوده به غلظت‌های ۰، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ ppm نیکل، در سه تکرار رشد داده شدند. دو ماه پس از قرار گرفتن گیاهان در تیمار نیکل، شاخص‌های رشد شامل وزن تر ریشه و اندام هوایی، نسبت ریشه به اندام هوایی، جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی و همچنین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها اندازه‌گیری شد. طبق نتایج، قارچ‌های اندوفایت سبب افزایش محتوای کلروفیل در برگ‌های هر دو ژنوتیپ و افزایش جذب نیکل، فقط در ژنوتیپ B ۷۵ فستوکا شدند. نتایج همچنین نشان دهنده بهبود رشد و افزایش مقاومت ژنوتیپ B ۷۵ فسکیوی بلند به تنش نیکل در اثر آلودگی با اندوفایت بود در حالیکه در ژنوتیپ ۷۵C گیاهان فاقد اندوفایت مقاومت بیشتری به تنش نیکل نشان دادند. نتیجه فوق می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که چگونگی اثر قارچ‌های اندوفایت در گیاه میزبان به ژنوتیپ میزبان وابسته است.

کلمات کلیدی: اندوفایت، فسکیوی بلند، کاروتنوئید، کلروفیل، نئوتیفودیوم، نیکل.

مقدمه:

شاید رابطه همزیستی ریزوبیوم- لگوم شایع ترین رابطه همزیستی میکروبی - گیاهی شناخته شده باشد، اما در سال‌های اخیر روابط همزیستی دیگری به خصوص میان گیاهان پوششی خانواده پواسه (Poaceae) و قارچ‌های خاصی به نام اندوفایت شناخته شده است. در حقیقت نام اندوفایت به قارچ‌ها و باکتری‌هایی اطلاق می‌شود که بدون ایجاد هر گونه علائم بیماری قابل مشاهده در بافت‌های سالم برگ و ساقه (و نه ریشه) گیاهان زیست می‌کنند (Wilson *et al.*, 1991). اندوفایت‌های همزیست با گیاهان خانواده پواسه متعلق به خانواده کلاویسیپیتاسه (Clavicipitaceae) و جنس نئوتیفودیوم (*Neotyphodium*)

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: lshabani@gmail.com

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

هستند. گونه قارچی *N. coenophialum* از اندوفایت‌های شناخته شده‌ای است که با گیاه *Festuca arundinacea* همزیست است (Malinowsky *et al.*, 2000). همزیستی اندوفایت‌ها با این گیاهان باعث تنوع در گیاهان پوششی و بهبود برخی ویژگی‌های گیاهی می‌شود (Kupper, 2001). این گیاهان همچنین توانایی رقابتی بیشتری نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت داشته و در نتیجه شرایط کمبود را بهتر تحمل می‌کنند (Hill, 1994). در برخی سیستم‌ها مثل فسکیوی بلند همزیست با قارچ *N. coenophialum*، گیاه ممکن است تحت شرایط طبیعی هم به اندوفایت وابسته باشد (White, 1987). مطالعات قبلی افزایش مقاومت فسکیوی بلند را به تنش‌های شوری، سرما و بهبود پنجه‌زنی گیاه نشان داده است (پارسائیان، ۱۳۸۲؛ سبزعلیان و میرلوحی، ۱۳۸۳).

نیکل عنصر ریزمغذی ضروری برای گیاهان است ولی به هرحال غلظت‌های بالای این فلز برای اکثر گونه‌های گیاهی سمی می‌باشد. علائم معمول سمیت نیکل در گیاهان ممانعت از رشد، کلروز، نکروز و پلاسیده و پژمرده شدن است (Nakazawa *et al.*, 2004). از جمله دلایل سمیت این فلز به اثر منفی آن روی فتوسنتز (Tripathy *et al.*, 1981) و تغذیه معدنی (Parida *et al.*, 2003) نسبت داده می‌شود. این فلز در غلظت‌های بالا می‌تواند جایگزین منیزیم موجود در کلروفیل شده و نیز از طریق مهار فعالیت آنزیم‌های سنتز کلروفیل باعث کاهش آن در بافت‌های گیاهی شود (Linger *et al.*, 2005). از طرف دیگر کاروتنوئیدها (به عنوان یک سیستم حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو) القا شده و در نتیجه‌ی این فعالیت انرژی کلروفیل های برانگیخته به جای اینکه به مولکول اکسیژن منتقل شود و آنها را به گونه های فعال تبدیل کند به کاروتنوئیدها منتقل شده و آنها را غیر فعال می‌کند (Gabbrielli *et al.*, 1999). کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد ناشی از غلظت‌های سمی نیکل تهدیدی جدی برای گیاهانی که در خاک‌های آلوده به غلظت‌های بالای این عنصر فلزی رشد می کنند محسوب می‌شود.

شواهد حاکی از آن است که ارتباط قارچ اندوفایت و گیاه فسکیوی بلند موجب شده است تا پتانسیل میزبان برای تحمل شرایط نامساعد افزایش یابد. این قارچ‌ها باعث اعطای خصوصیات مهمی به گیاه می‌شود که بهبود میزان فتوسنتز (Marks and Clay, 1996) و تحمل در برابر شرایط نامساعد محیطی (Sabzalian and Mirlohi, 2010) از آن جمله‌اند. این خصوصیات در اثر برخی تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (نظیر تولید برخی آلکالوئیدها) در گیاه حاصل می‌شود (Breen, 1994). در زمینه تأثیر اندوفایت در مقاومت به فلزات سنگین گزارشات اندکی وجود دارد. Richardson و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که در شرایط تنش کادمیوم، حضور اندوفایت، توانایی پنجه زنی گیاه را افزایش و طول برگ را کاهش و انتقال و تجمع کادمیوم در اندام هوایی را افزایش می‌دهد. در گیاهان فستوکا و لولیوم افزایش مقاومت به آلومینیوم (Malinowski *et al.*, 1999; Malinowski *et al.*, 2005)، روی (زمانی، ۱۳۹۱) و همچنین کادمیوم (Soleimani *et al.*, 2010) در نتیجه همزیستی با اندوفایت گزارش شده است.

با توجه به آلودگی نیکل به عنوان یکی از مهمترین مسائل زیست محیطی در سال‌های اخیر، و همچنین با در نظر گرفتن نقش قارچ‌های اندوفایت در کاهش اثرات تنش و ایجاد مقاومت بیشتر در گیاه میزبان، بررسی پاسخ فیزیولوژیک این قارچ‌ها در برخورد با تنش‌های مخرب محیطی از جمله فلزات سنگین و نقش آنها در بهبود سیستم فتوسنتزی گیاهان علوفه‌ای ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر آلودگی با اندوفایت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و همچنین جذب فلز سنگین نیکل و ایجاد مقاومت به آن در شرایط تنش این عنصر در گیاه مرتعی و علوفه‌ای فسکیوی بلند انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

در این پژوهش از دو کلون B ۷۵ و C ۷۵ فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفایت (E^+) و دو کلون عاری از اندوفایت

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

(E^-) استفاده گردید. پنجه‌های این گیاهان از مزرعه چاه اناری واقع در دانشگاه صنعتی اصفهان به گلدان‌ها پژوهشی انتقال داده شد. گیاهان به مدت ۶ ماه رشد و تکثیر یافتند. حذف قارچ‌های اندوفایت از گیاهان E^+ و ایجاد گیاهان E^- از آنها قبلا" با استفاده از دو قارچ کش فولیکور و پروپیکونازول صورت گرفته بود (Sabzalian and Mirlohi, 2010). قبل از کشت گیاهچه‌ها، اطمینان از حضور یا عدم حضور قارچ‌های اندوفایت در هر پنجه به روش Saha و همکاران (۱۹۸۸) و با روش رنگ آمیزی غلاف برگ با رز بنگال بررسی گردید. میزان آلودگی در گیاهان دارای اندوفایت ۱۰۰درصد بود و در گیاهان بدون قارچ، اندوفایتی مشاهده نشد.

تیمارهای نیکل: پس از رشد کافی گیاهان (از نظر تعداد پنجه)، تعداد ۱۰ پنجه از گیاه مادری جدا شده و به گلدان‌های پلاستیکی (۳ کیلویی) حاوی خاک و شن به نسبت ۳ به ۱ و آلوده به ۴ سطح کنترل، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ppm نیکل انتقال داده شدند. انتخاب غلظت‌های فوق با توجه به غلظت‌های معمول و ایجاد کننده سمیت این فلز در گیاهان مشابه صورت گرفت (Khalid and Tinsley, 1980). غلظت‌های ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیکل، با حل کردن مقدار محاسبه شده از نمک $NiCl_2$-$6H_2O$ با درجه خلوص ۲۴/۶ درصد در آب تهیه شد: برای هر کیلوگرم خاک، ۱۲۱ میلی گرم (تیمار ۳۰)، ۳۶۱ میلی گرم (تیمار ۹۰) و ۷۲۶ میلی گرم (تیمار ۱۸۰). محلول‌های حاصل روی خاک به طور یکنواخت اسپری و بافت خاک قبل از استفاده در گلدان برای کاشت گیاه، به خوبی مخلوط گردید. قبل از کشت، با استفاده از روش هضم اسیدی و دستگاه طیف سنج جذب اتمی از غلظت نیکل خاک اطمینان حاصل شد و پس از دو ماه از تیمار نیکل حضور قارچ در غلاف برگی گیاهان دارای اندوفایت تائید شد. دو ماه بعد از رشد گیاهان در تیمارهای مورد نظر، وزن تر ریشه و اندام هوایی (علوفه) و همچنین نسبت وزن تر ریشه به اندام هوایی برای هر گلدان تعیین گردید.

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در برگ‌ها: برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلرفیل a، b و کاروتنوئیدها از برگ‌های تازه گیاهان پس از طی دو ماه دوره تنش استفاده شد. اندازه‌گیری کلروفیل‌های a و b با روش Arnon (۱۹۴۹) و کاروتنوئید با روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. در این روش میزان جذب محلول سانتریفیوژ شده برگ‌های ساییده شده در استون ۸۰٪ در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و سپس میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها طبق روابط ۱ تا ۳ برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه گردید.

رابطه ۱:

$$\text{Chlorophyl a}=([(12.7\times D663)-(2.69\times D645)]\times V)/(1000\times W)$$

رابطه ۲:

$$\text{Chlorophyl b}=([(22.9\times D645)-(4.93\times D663)]\times V)/(1000\times W)$$

رابطه ۳:

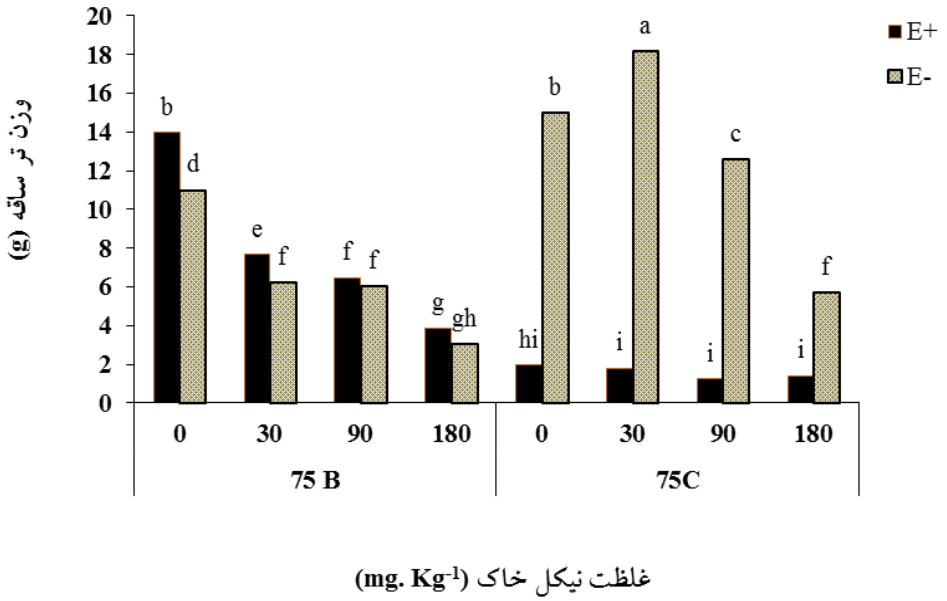
$$\text{Carotenoids}=((100\times D470-1.82\times Chl.a-85.02\times Chl.b))/198$$

V= حجم نهایی عصاره برحسب میلی‌لیتر، D= جذب نوری، W= وزن بافت بر حسب گرم

سنجش میزان جذب نیکل در برگ و ریشه: سنجش میزان جذب نیکل در برگ و ریشه گیاه به روش جذب اتمی صورت گرفت. به این منظور حدود یک گرم از بافت خشک ریشه و بخش‌های هوایی هر نمونه وزن و به مدت ۱۴ ساعت در کوره الکتریکی (مدل Memert) و در دمای ۴۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. خاکستر حاصل پس از سرد شدن در ۱۰ میلی لیتر اسیدنیتریک ۱۰٪ حل شد و پس از صاف شدن با کاغذ صافی میزان عنصر نیکل در آن توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی آنالیز گردید (Reeves, *et al*, 1996).

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



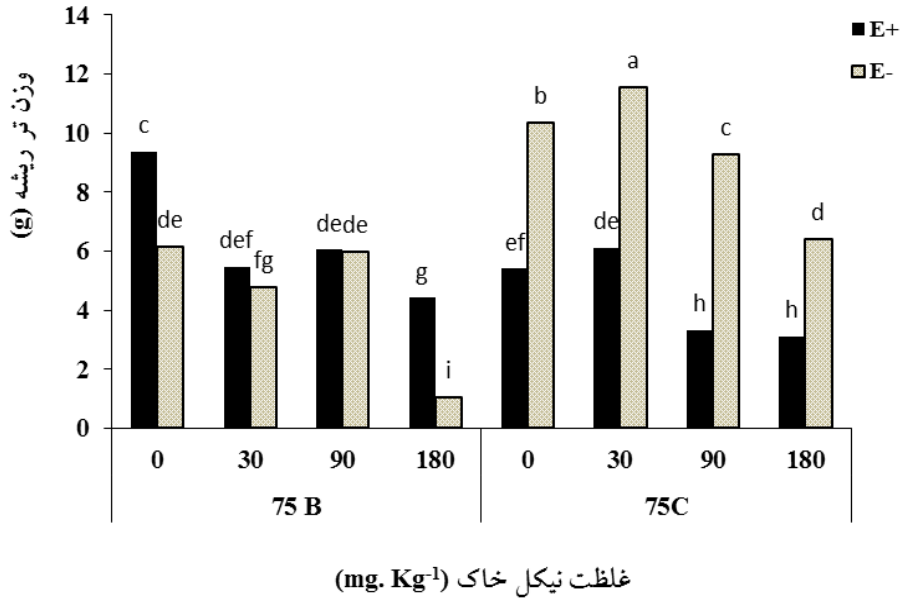
شکل ۱- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر وزن تر اندام هوایی در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

گردید. در این حالت ۲ ژنوتیپ (۷۵B و ۷۵C)، دو حالت قارچ (با و بدون اندوفایت) و ۴ غلظت نیکل (کنترل، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰) به عنوان فاکتورها در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD (P<۰/۰۵) مشخص شد.

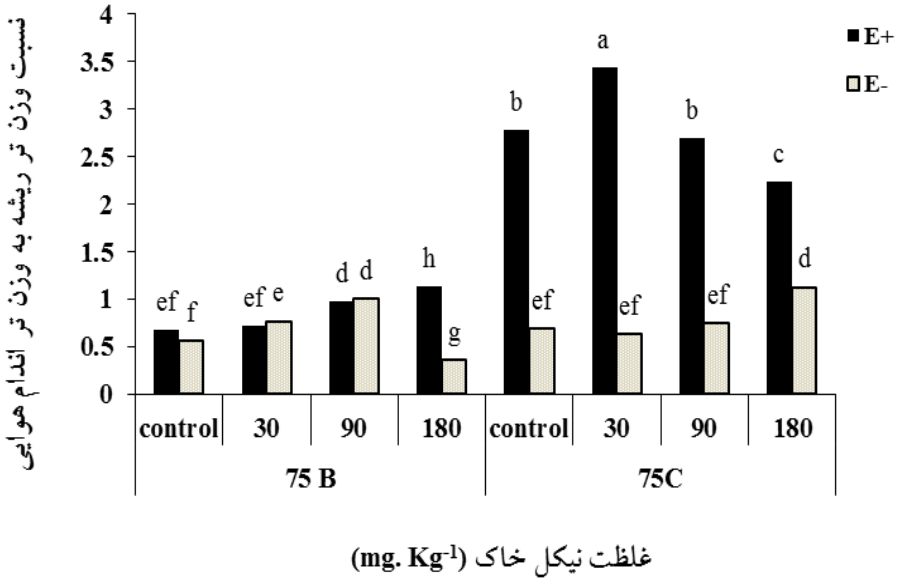
نتایج:

جدول ۱ نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی، نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایی، کلروفیل **a**، کلروفیل **b**، نسبت کلروفیل **a/b**، کاروتنوئید، جذب نیکل ریشه و اندام هوایی را در گیاه فسکیوی بلند نشان می‌دهد. نتایج بررسی تغییر شاخص‌های رشدی گیاه (شامل وزن تر ریشه و اندام هوایی) به وسیله قارچ‌های اندوفایت در شرایط تنش و عدم تنش نیکل نشان داد که گیاهان حاوی اندوفایت (E^+) در ژنوتیپ ۷۵ B نسبت به گیاهان عاری از اندوفایت (E^-) در همان ژنوتیپ برتری داشتند. این برتری در شاخص وزن تر اندام‌هوایی در شرایط تنش در پائین‌ترین غلظت نیکل ppm ۳۰ معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود (شکل ۱). با توجه به این نتایج و با در نظر گرفتن این نکته که گیاهان E^+ به خصوص در غلظت‌های بالاتر نیکل دارای ظاهر بهتری نسبت به گیاهان E^- بودند (در گیاهان E^+ کلروز و نکروز کمتر بود و برگ‌ها شاداب تر بودند) می‌توان گفت که وجود اندوفایت در این ژنوتیپ مقاومت گیاه را به شرایط تنش نیکل افزایش داده است. همچنین، اثر مثبت آلودگی با اندوفایت در بهبود رشد فسکیوی بلند B ۷۵، با کاهش کمتر وزن تر ریشه و اندام هوایی در گیاهان E^+ در مقایسه با گیاهان E^- مشهود بود. اما در ژنوتیپ C ۷۵ هر دو شاخص وزن تر ریشه و اندام هوایی، در گیاهان فاقد اندوفایت بیشتر از گیاهان حاوی اندوفایت بود (شکل ۲). با این حال نسبت وزن تر ریشه به اندام هوایی در ژنوتیپ B ۷۵ در بیشترین غلظت نیکل (۱۸۰) و در ژنوتیپ C ۷۵ در تمام سطوح نیکل در گیاهان حاوی اندوفایت بیشتر از گیاهان فاقد اندوفایت بود (شکل ۳). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل a و b پس از اعمال تیمارهای مختلف

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



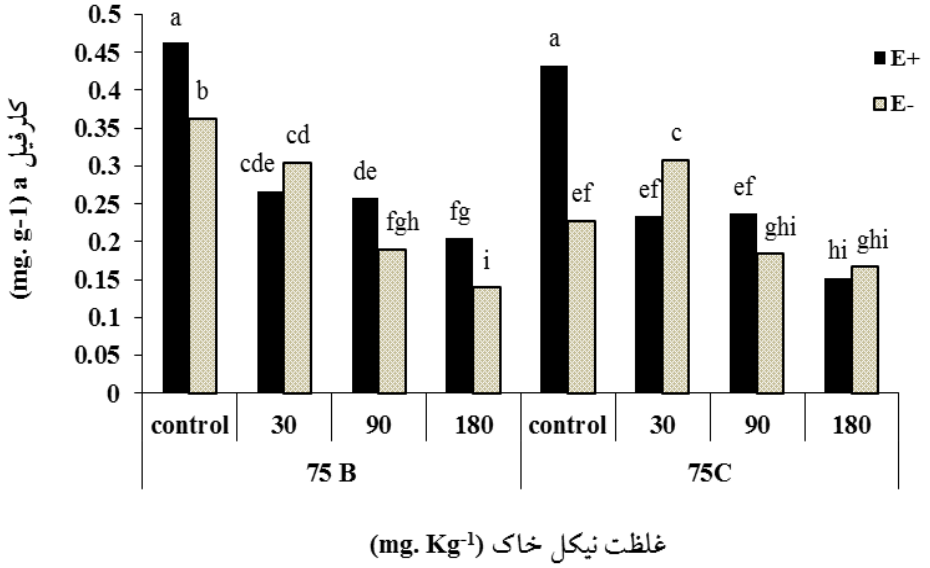
شکل ۲- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر وزن تر ریشه در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).



شکل ۳- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایی در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

نیکل کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) آنها را در هر دو ژنوتیپ نشان داد. اما میزان کاروتنوئید فقط در ژنوتیپ B ۷۵ در تیمارهای نیکل نسبت به کنترل کاهش یافت. آلودگی با اندوفایت سبب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) کلروفیل a در گیاهان کنترل و تیمار ۳۰ppm در ژنوتیپ B ۷۵ و همچنین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) آن در تمام سطوح نیکل (به

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



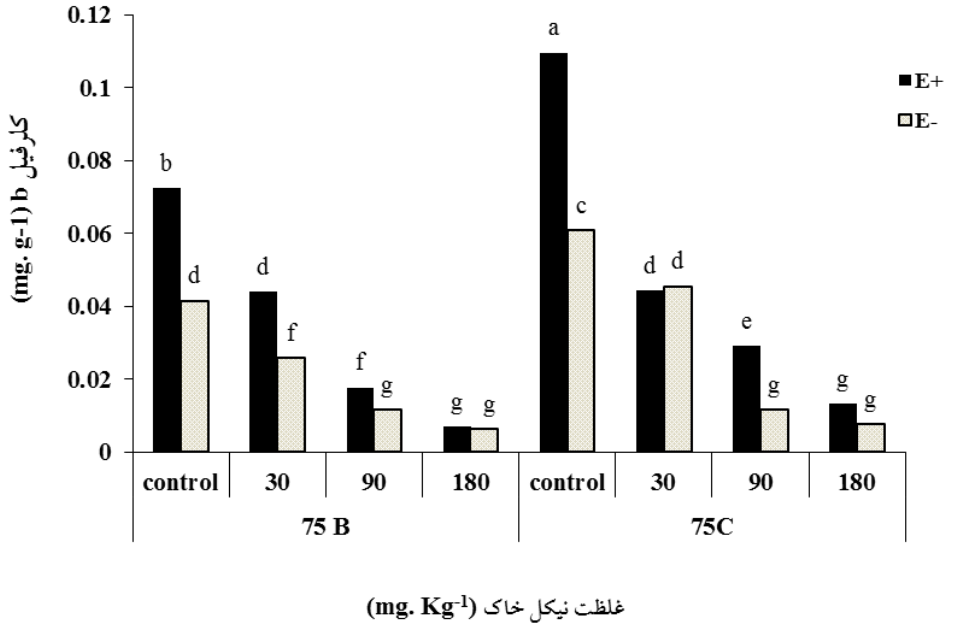
شکل ۴- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر میزان کلروفیل a در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

جز تیمار ۳۰ppm) در ژنوتیپ C ۷۵ گردید (شکل ۴). گیاهان حاوی اندوفایت همچنین دارای کلروفیل b بیشتری در فسکیوی بلند B ۷۵ تحت شرایط کنترل و تنش (به جز تیمار ۳۰ppm) نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت بودند (شکل ۵). نسبت کلروفیل a/b با افزایش غلظت نیکل روند افزایشی داشت و میزان آن در فسکیوی B ۷۵ در غلظت‌های پایین‌تر نیکل (کنترل، ۳۰ppm و ۹۰ppm)، در گیاهان E^- و در بالاترین غلظت نیکل (۱۸۰ ppm)، در گیاهان E^+ بیشتر بود. در فسکیوی C ۷۵ نسبت کلروفیل a/b به خصوص در غلظت‌های بالای نیکل (تیمارهای ۹۰ و ۱۸۰) در گیاهان فاقد اندوفایت بیشتر بود (شکل ۶). در ژنوتیپ B ۷۵ میزان کاروتنوئید در گیاهان E^+ و E^- در شرایط تنش نیکل تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P<۰/۰۵) هرچند میزان آن در شرایط کنترل در گیاهان E^+ بیشتر از گیاهان E^- بود. در فسکیوی C ۷۵ با وجود اینکه در شرایط کنترل میزان کاروتنوئید در گیاهان حاوی اندوفایت به مراتب بیشتر از گیاهان فاقد اندوفایت بود ولی تحت تیمارهای نیکل میزان آن در تیمار ۳۰ ppm در گیاهان E^+ و در تیمار ۹۰ ppm در گیاهان E^- بیشتر بود (شکل ۷). به عبارت دیگر تأثیر اندوفایت بر میزان کلروفیل b در غلظت‌های مختلف نیکل متفاوت بود. در حقیقت گیاهان E^- در ژنوتیپ C ۷۵ نسبت به کاهش میزان کاروتنوئید در شرایط استرس نیکل مقاوم‌تر از گیاهان E^+ بودند.

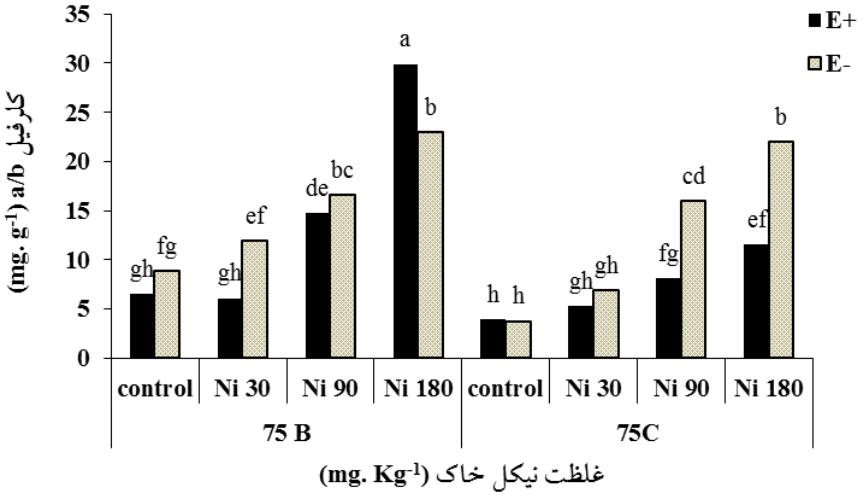
میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی دو ژنوتیپ B ۷۵ و C ۷۵ فسکیوی بلند در اشکال ۸ و ۹ نشان داده شده است. جذب نیکل در ریشه فسکیوی بلند B ۷۵ در گیاهان حاوی اندوفایت به طور کل ٪۲۵ بیشتر از گیاهان فاقد اندوفایت بود. اما در ژنوتیپ C ۷۵ در تمام سطوح نیکل میزان جذب در گیاهان فاقد اندوفایت بیشتر بود.

جذب نیکل در اندام هوایی فسکیوی بلند B ۷۵، بر خلاف ریشه، در گیاهان فاقد اندوفایت به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از گیاهان حاوی اندوفایت بود. در ژنوتیپ C ۷۵ در تمام سطوح نیکل میزان جذب در اندام هوایی گیاهان فاقد اندوفایت بیشتر بود. میزان جذب نیکل هم در ریشه و هم در اندام هوایی به طور معنی داری (P<۰/۰۵) در ژنوتیپ C ۷۵ بیشتر از ژنوتیپ B ۷۵ بود.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



شکل ۵- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر میزان کلروفیل b در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

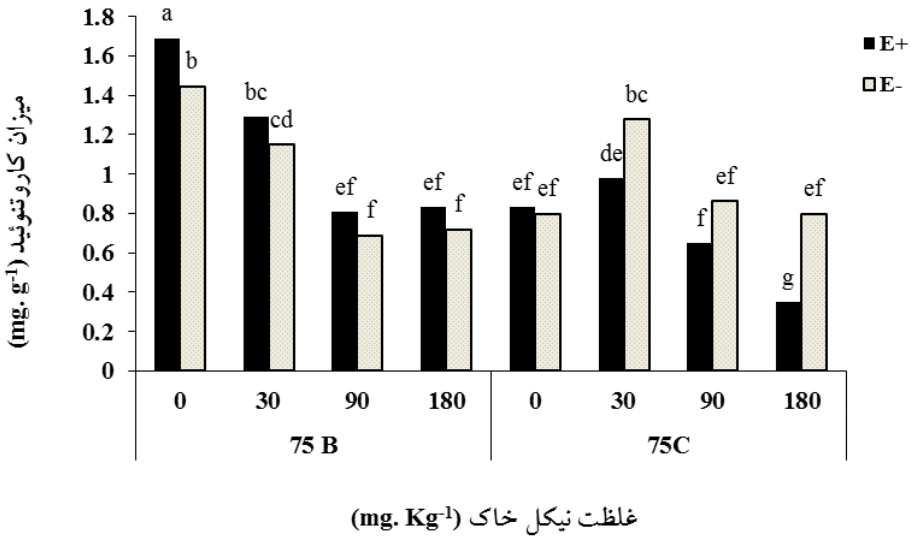


شکل ۶- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر نسبت کلروفیل a/b در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

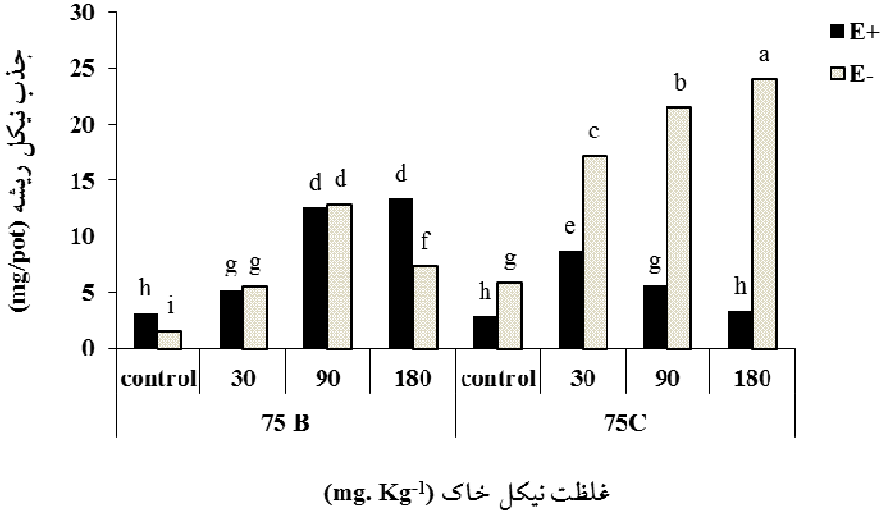
بحث:

یکی از اثرات فلزات سنگین کاهش زیست توده از طریق تأثیر روی متابولیسم، تنفس و متابولیسم نیتروژن است (Ferreira *et al*., 2002; Balestrasse *et al*., 2004).غلظت‌های سمی نیکل همچنین از طریق تغییر ساختار غشای سلول‌های ریشه و کاهش سطوح جذب کننده آب و املاح سبب کاهش پتانسیل آب گیاه و در نتیجه تأثیر منفی در فرایندهای فیزیولوژیکی مهم نظیر تعرق، تنفس، فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد گیاه می‌شوند (Fuentes *et al*., 2006). دلیل دیگری که می‌تواند سبب کاهش رشد در اثر افزایش

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



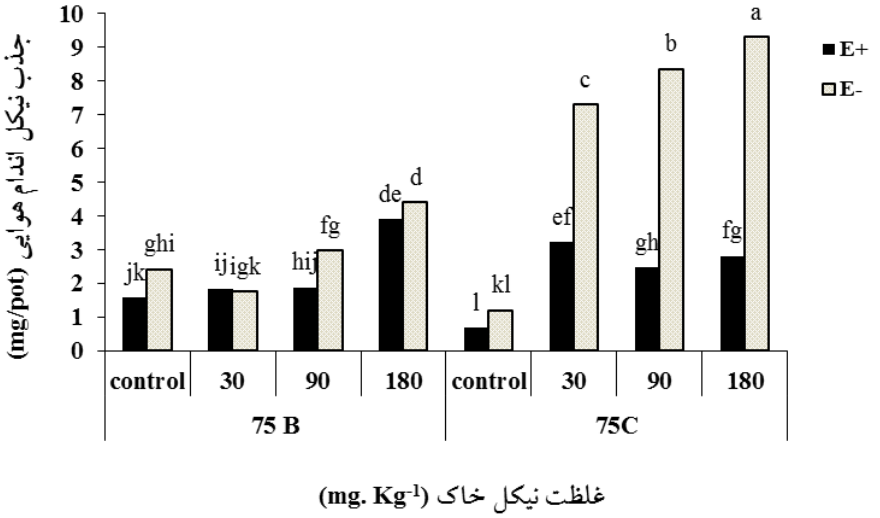
شکل ۷- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر میزان کاروتنوئید در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).



شکل ۸- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر میزان جذب نیکل ریشه در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

غلظت نیکل شود این است که نیکل سبب ایجاد تداخل در بیوسنتز کلروفیل و آنزیم‌های فتوسنتزی و در نتیجه فتوسنتز گیاه می‌شود (Sheoran *et al.*, 1990) و از این طریق رشد و زیست توده را کاهش می‌دهد. دلایل چندی برای نحوه تأثیر قارچ‌های اندوفایت در ویژگی‌های رشدی گیاهان میزبان ارائه شده است. Latch (۱۹۹۸)گزارش کرده است که قارچ‌های اندوفایت قادر به تولید ترکیبات شیمیایی متنوعی در گیاهان میزبان هستند که این ترکیبات از نظر بیولوژیکی فعال بوده و در افزایش قدرت رشد و پایداری گیاه مؤثرند. Malinowski و Belesky (۲۰۰۰) برخی از ترکیبات تولید شده در گیاهان آلوده به قارچ‌های اندوفایت را محلول قندها، متابولیت‌های قارچی مانیتول

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020



شکل ۹- برهمکنش نیکل × اندوفایت × ژنوتیپ بر میزان جذب نیکل اندام هوایی در فسکیوی بلند. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

(Manitol) و آرابیتول (Arabitol)، اسیدآمینه پرولین (Prolin) و آلکالوئید لولین (Lolin) ذکر کرده‌اند. این ترکیبات در فعالیت‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه شرکت کرده و باعث افزایش قدرت رویشی گیاه در شرایط مختلف تنش محیطی می‌شوند. Arachevaleta و همکاران (۱۹۸۹) دلیل افزایش وزن اندام هوایی را کاراتر عمل کردن گیاهان حاوی اندوفایت در جذب مواد غذایی به ویژه نیتروژن عنوان کرده‌اند. به علاوه، افزایش رشد و زیست‌توده گیاه ممکن است به دلیل پاسخ فیزیولوژیک گیاه در نتیجه افزایش سطح هورمون‌های درونی گیاه (هورمون‌های رشد مانند اکسین) ناشی از حضور اندوفایت و یا افزایش فتوسنتز باشد (De Battista *et al.*, 1990). همچنین می‌توان گفت حضور اندوفایت با افزایش رشد ریشه و در نتیجه بهبود جذب آب می تواند سبب کاهش تنش خشکی ثانویه که عموما در تنش فلزات سنگین ایجاد می‌شود گردد. مطابق با نتایج این تحقیق De Battista (۱۹۹۰) هم در مقایسه‌ای گزارش نمود که وجود قارچ‌های اندوفایت در گیاه سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شوند. Kuldau و Bacon (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که حضور اندوفایت‌ها در فسکیوی بلند و رای گراس چندساله منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردد. Soleimani و همکاران (۲۰۱۰) نیز تأثیر مثبت قارچ‌های اندوفایت را در بهبود رشد و مقاومت فسکیوی بلند تحت تنش کادمیوم گزارش کردند. بر خلاف ژنوتیپ B ۷۵، در ژنوتیپ C ۷۵ حضور اندوفایت کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی را به دنبال داشت. بنابراین همیشه قارچ‌های اندوفایت منجر به برتری گیاهان آلوده نسبت به گیاهان غیرآلوده نمی‌شوند و به نظر می‌رسد تأثیر مثبت قارچ‌های اندوفایت بستگی به ژنوتیپ میزبان و ژنتیک اثر متقابل با میزبان دارد (میرلوحی و همکاران ۱۳۸۵). برای مثال De Battista و همکاران (۱۹۹۰) هم نتیجه گرفتند که اندوفایت در رقم Kentuckey 31 فسکیوی بلند باعث افزایش میزان علوفه و در رقم Georgia-Jesup منجر به کاهش میزان علوفه می‌شود. در آزمایش مذکور محققین بر اثر متقابل ژنوتیپ گیاهی و اندوفایت تأکید نمودند. افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی تحت تأثیر اندوفایت، بیانگر تأثیر بیشتر اندوفایت در توسعه ریشه نسبت به اندام هوایی گیاه است و این موضوع از خصوصیات مهم فیزیولوژیک گیاه در مقاومت احتمالی گیاه به خشکی است (زمانی، ۱۳۹۰). میزان کلروفیل در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر استرس های محیطی تعیین

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

می‌شود. از آنجایی که فلزات سنگین معمولا از طریق مهار فعالیت آنزیم، فرایندهای متابولیکی را مهار می‌کنند بنابراین کاهش میزان کلروفیل در اثر فلزات سنگین به علت مهار فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز کلروفیل است. بررسی‌ها نشان داده است که مراحل اولیه بیوسنتز کلروفیل (سنتز ۵ آمینو لووینیک اسید (ALA) و فعالیت آنزیم ۵ آمینولووینیک دهیدراتاز (ALAD) که تبدیل ALA به پرفوبیلینوژنراکاتالیز می‌کند)، از حساس‌ترین مراحل بیوسنتز کلروفیل نسبت به فلزات سنگین محسوب می‌شود (Prasad *et al.*, 2001). فلزات سنگین به شدت سبب مهار فعالیت ALAD و کاهش تجمع کلروفیل می‌شوند. ایجاد اختلال در مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل به وسیله فلزات سنگین از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تیمار فلزات سنگین است (Manio *et al.*, 2003). نیکل همچنین با ایجاد اختلال در جذب آهن و سایر عناصر ریز مغذی و جایگزین شدن به جای یون Mg سبب کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Gautam and Pandey, 2008). Gadallah (۱۹۹۴) و Sharma و Gaur (۱۹۹۵) نیز به کاهش میزان کلروفیل به ویژه کلروفیل a با افزایش غلظت نیکل اشاره کردند. بررسی‌های خطیب و همکاران (۱۳۸۷) نیز نشان‌دهنده کاهش میزان کلروفیل در برگ گیاه جعفری تحت تنش نیکل است.افزایش نسبت کلروفیل a/b نشان می‌دهد که کلروفیل b حساس‌تر از کلروفیل a نسبت به سمیت نیکل است. این نتیجه موافق با نتایج Gopal و همکاران (۲۰۰۲) و نیز Sakalauskaite و همکاران (۲۰۰۶) است. در مقابل، Pandey و Sharma (۲۰۰۲) نشان دادند که در برگ‌های کلم تیمار شده با نیکل غلظت کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b کاهش یافته است. همچنین کاهش کاروتنوئیدها به دلیل فرونشانی غیر فتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته است که منجر به برهم زدن ساختار آنها می‌گردد (Sanita and Gabrielli, 1999). Singh و Pandey (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که افزایش نیکل سبب کاهش محتوای کاروتنوئید در کاهو می‌شود. تنش حاصل از نیکل یک تنش اکسیداتیو است و حضور اندوفایت در گیاه و فعالیت‌های متابولیکی آن از تنش اکسیداتیو و در نتیجه تخریب کلروفیل در اثر تنش می‌کاهد (Bonnet *et al.*, 2000). همچنین اندوفایت سبب جذب بیشتر منیزیم (از فلزات مهم در سنتز کلروفیل) و در نتیجه سنتز بیشتر کلروفیل می‌شود و همچنین طبق تحقیقات قبلی (Malinowsky *et al.*, 2000) گیاهان دارای اندوفایت در جذب نیتروژن نیز تواناتر هستند و افزایش نیتروژن در گیاه با افزایش ایجاد کلروفیل همراه است. تفاوت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این آزمایش نسبت به حضور اندوفایت را می‌توان به تفاوت‌های فیزیولوژیکی دو ژنوتیپ و تأثیر متفاوت اندوفایت در آن‌ها نسبت داد. مطالعات اندکی در زمینه تأثیر اندوفایت در میزان کلروفیل و کاروتنوئید گیاه صورت گرفته است ولی Ren (۲۰۱۱) در تحقیقی نشان داد که حضور اندوفایت سبب بهبود توان فتوسنتزی گیاهان میزبان در شرایط تنش‌های پایین کادمیوم شده و در تنش‌های بالا، تأثیر اندوفایت معنی‌دار نیست.

شاخص جذب معیار ارزیابی میزان استخراج عناصر فلزی از خاک است، زیرا این شاخص از حاصلضرب دو مؤلفه غلظت عنصر و میزان ماده خشک بدست می‌آید. بیشتر بودن جذب نیکل در ریشه نسبت به اندام هوایی به این دلیل است که ریشه گیاهان عالی به عنوان سدی در برابر فلزات سنگین نقش ایفا می‌کند و از انتقال فلزات سنگین به بخش‌های بالایی گیاه جلوگیری می‌کند (Bonnet *et al.*, 2000) ولی در گیاهان غیر متحمل چون آندودرم ریشه به عنوان یک مانع ضعیف عمل می‌کند مانع از انتقال یون‌های فلزی به بخش‌های بالایی گیاه نمی‌شود (Ahmad *et al.*, 2010). مطابق با شکل ۸ در ژنوتیپ B ۷۵ میزان جذب نیکل ریشه در گیاهان حاوی اندوفایت بیشتر از گیاهان بدون اندوفایت بود. مطابق با تحقیقات زمانی (۱۳۹۰) نیز میزان فلز روی در ریشه فستوکای حاوی اندوفایت بیشتر از فستوکای فاقد اندوفایت بود. Ren و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که رای گراس دارای قارچ،

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

جذب کادمیوم بیشتری نسبت به رای گراس بدون قارچ دارد. آنها دلیل افزایش جذب نیکل در ریشه گیاهان حاوی اندوفایت را ترکیب‌های آزاد شده از ریشه مانند اسیدهای آلی و ترکیبات فنولی عنوان کردند. وجود ترکیبات فنولی در ریشه گیاهان دارای اندوفایت در پژوهش‌های قبلی نیز به اثبات رسیده است (Malinowsky *et al.*, 2000; Malinowsky *et al.*, 2005). همچنین West و همکاران (۱۹۹۰) عنوان کردند که حضور اندوفایت ترکیبات ناحیه ریشه را مطابق با دو فرضیه متأثر می‌کند: ۱) تولید ترکیبات آلکالوئیدی و ۲) افزایش سرعت فتوسنتز و در نتیجه افزایش ترشحات اسیدی در ریشه. کمتر بودن میزان نیکل در اندام هوایی گیاهان دارای اندوفایت نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت در ژنوتیپ B ۷۵، بیانگر انتقال کمتر نیکل از ریشه به اندام هوایی در گیاهان دارای اندوفایت است که می‌تواند به عنوان یک مکانیسم دفاعی مهم تلقی شود، زیرا علاوه بر اینکه بخش‌های هوایی گیاه محل فتوسنتز است، تحمل اندام هوایی گیاه به فلزات سنگین نسبت به ریشه کمتر است (Chodhury and Panda, 2004). احتمالا نیکل درون سلول‌های ریشه و یا در سطح سلول‌های ریشه غیرفعال می‌شود. پی‌بردن به مکانیسم این عمل نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. در ژنوتیپ C ۷۵، بر خلاف ژنوتیپ B۷۵ و همچنین مغایر با نتایج محققان قبلی، جذب نیکل هم در ریشه و هم در اندام هوایی در گیاهان فاقد اندوفایت بیشتر از گیاهان حاوی اندوفایت بود.

نتیجه گیری کلی:

به طور کلی می‌توان عنوان کرد که در ژنوتیپ B ۷۵ فسکیوی بلند تأثیر حضور اندوفایت در شرایط تنش نیکل به صورت افزایش در جذب نیکل ریشه و کاهش انتقال نیکل به اندام‌هوایی میزبان، افزایش میزان کلروفیل a و b و بهبود رشد و مقاومت گیاه در شرایط تنش مشاهده شد. با توجه به اینکه اندام‌هوایی در گیاهان علوفه‌ای مثل فسکیوی بلند بخش حائز اهمیت گیاه است، کاهش انتقال نیکل به آن و همچنین افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌تواند به عنوان مکانیسم‌های احتمالی القا شده توسط اندوفایت در نظر گرفته شود که در ایجاد مقاومت و رشد بیشتر گیاه میزبان حائز اهمیت است. ولی در ژنوتیپ C۷۵ فسکیوی بلند تأثیر حضور اندوفایت در تنش نیکل، کاهش جذب نیکل هم در ریشه و هم در بخش هوایی گیاه بود. این ژنوتیپ در حضور اندوفایت نه تنها شرایط تنش را تحمل نکرد بلکه رشد آن در تمام تیمارهای نیکل منفی بود. به نظر می‌رسد این ژنوتیپ نسبت به همزیستی با قارچ نئوتیفودیوم حساس بوده یا با آن سازگاری نداشته و بدون حضور قارچ نسبت به تنش نیکل مقاوم‌تر است. به علاوه، با توجه به اینکه رنگیزه‌های فتوسنتزی در هر دو ژنوتیپ فستوکا در حضور قارچ اندوفایت نسبت به عدم حضور آن افزایش یافت ولی فقط در یکی از دو ژنوتیپ مقاومت به تنش در حضور اندوفایت بیشتر شد، می‌توان نتیجه گرفت که تنها افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود فتوسنتز نمی‌تواند در بروز مقاومت به تنش نیکل مؤثر باشد و احتمالا مکانیسم‌های دیگری مانند فعالیت‌های آنتی اکسیدانی گیاه نیز در ایجاد مقاومت نقش حائز اهمیتی دارند که باید مورد توجه و بررسی قرار گیرند. در آخر، با در نظر گرفتن نتایج این پژوهش و مقایسه آن با تحقیقات قبلی می‌توان تأکید کرد که نوع و میزان تنشی که گیاه با آن روبرو می‌شود و همچنین ژنوتیپ میزبان، همگی در چگونگی تأثیر اندوفایت در میزبان مؤثر هستند.

تشکر و قدردانی:

این پروژه در قالب طرح پژوهشی با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شده است، که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

منابع:

پارسائیان. م. (۱۳۸۲) تأثیر اندوفایت در بروز مقاومت به سرما در دو گونه فستوکا، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

خطیب. م، راشد محصل. م، گنجعلی. ع و لاهوتی. م، (۱۳۸۷) تأثیر غلظت‌های متفاوت نیکل بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه جعفری (Petroselin umcrispum). مجله پژوهشهای زراعی ایران، ۶: ۳۰۱-۲۹۵.

زمانی علی‌آبادی. ن. (۱۳۹۰) تأثیر قارچ‌های اندوفایت بر استخراج گیاهی روی از خاک، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

سبزعلیان. م. و میرلوحی. آ. ۱۳۸۳. نقش قارچ های اندوفایت در مقاومت به شوری علف بره نی مانند (*Festuca arundinacea*) و علف بره مرتعی (*Festuca pratensis*). چکیده مقالات هشتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۳ تا ۵ شهریور، دانشگاه گیلان.

میرلوحی آ.، سبزعلیان م. و اهتمام م. (۱۳۸۵) ارتباط قارچ های همزیست اندوفایت با زود رسی و صفات وابسته به آن در گیاه فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Scherb.) و فسکیوی مرتعی (*Festuca pratensis* Huds.). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

Ahmad, P., Nabi, G. and Ashraf, M. (2010) Cadmium-induced oxidative damage in mustard *(Brassica juncea*) plants can be alleviated by salicylic acid. South African Journal of Botany 77: 36-44.

Arachevaleta, M., Bacon, C. W., Hoveland, C. S. and Radcliffe, D. E. (1989) Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. Agronomy Journal 81: 83-90.

Arnon, D. I. (1949) Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Phenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Balestrasse, K. B., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2004) Cadmium-indused senescence in nodules of soybean (*Glycin max* L.) plants. Plant and Soil 262: 373-381.

De Battista, J. P. D., Bouton, J. H., Bacon, C. W. and Siegel, M. R. (1990) Rhizome and herbage production of endophyte removed tall fescue clones and populations. Agronomy Journal 82: 651–654.

Bonnet, M., Camares, O. and Veisseir, P. (2000) Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv Apollo). Journal of Experimental Botany 51: 945-953.

Breen, J. P. (1994) Acremonium endophytic interactions with enhanced plant resistance to insects. Annual Review of Entomology 39: 401-423.

Chodhury, S. and Panda, S. K. (2004) Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oriza sativa* L. roots. Bulgarin Journal of Plant Physiology 30: 95-110.

Ferreira, R. R., Fornazier, R. F., Vitoria, A. P., Lea, P. J. and Azevedo, R. A. (2002) Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. Journal of Plant Nutrition 25: 327-342.

Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J. and Vallejo, V. R. (2006) Response of *Pinus halepensis Mill*. Seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. Environmental Pollution 145: 316-323.

Gabbrielli, R., Pandolfini, T., Espen, L. and Palandri, M. (1999) Growth, peroxidase activity and cytological modifications in *Pisum sativum* seedlings exposed to Ni^{2+} toxicity. Journal of Plant Physiology 155: 639–645.

Gadallah, M. A. (1994) Interactive effect of heavy metals and temperature on the growth, and chlorophyll, saccharides and soluble nitrogen contents in *Phaseolus* plants. Biologia Plantarum 36: 373-382.

Gautam, S. and Pandey, S. N. (2008) Growth and biochemical responses of nickel toxicity on leguminous crop (*Lens esculentum*) grown in alluvial soil. Research Environment Life Science 1: 25-28.

Gopal, R., Mishra, K., Zeeshan, M., Prasad, S. and Joshi, M. (2002) Lasher-indused chlorophyll fluorescence spectra of mung plants growing under Ni stress. Current Science 83: 880-884.

Hill, N. S. (1994) Echological relationships of Balansiae infected graminoids. CRC Press, USA.

Khalid, B. Y. and Tinsley, J. (1980) Some effects of nickel toxicity on rye grass. Plant and Soil 55: 139-144.

Kuldau, G. and Bacon, C. (2008) Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. Biological Control 46: 57-71.

Kupper, H. (20010 Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. Environmental and Experimental Botany 52: 2291-2300.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020

International Journal of Phytoremediation 13: 233-243.

Ren, A., Yubao, G., Zhang, L. and Fingxing, N. (2006) Effect of cadmium on growth parameters of endophyte infected and and endophyte free ryregrass. Journal of Plant nutrition and Soil Science 169: 857-860.

Richardson, M. D., Chapman, G. W., Hoveland C. S. and Bacon C. W. (1992) Sugar alcohols in endophyte- infected tall fescue under drought. Crop Science 32: 1060-1061.

Sabzalian, M. R. and Mirlohi, A. (2010) *Neotyphodium* endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 173: 952–957.

Saha, D. C., Jackson, M. A. and Johnson-Cialese, J. M. (1988) A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. Phytopatology 78: 237-239.

Sakalauskaite, J., Staniene, G., Stanys, V., Duchovskis, P., Samuoliene, G., Baranauskis, K., Urbonaviciute, A., Revin, V. and lukatkin, A. (2006). Cadmium resistance of apple rootstocks M. 9 and B. 396 *in vitro*. Sodininkyste Ir Darzininkyste 25: 273-282.

Sanita, T. and Gabrielli, R. (1999) Response to cadmium in higher plants-review. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

Sharma, S. S. and Gaur, J. (1995) Potential of *Lemna polyrrhiza* for removal of heavy metals. Ecological Engineering 4: 37-43.

Sheoran, I., Singal, H. and Singh, R. (1990) Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). Photosynthesis Research 23: 345-351.

Singh, K. and Pandey, S. N. (2011) Effect of nickel-stresses on uptake, pigments and antioxidative responses of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. Environmental Biology 32: 391-394.

Soleimani, M., Hajabbasi, M. A., Afyuni, M., Mirlohi, A., Borggaardc, O. K. and Holmc, P. E. (2010) Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca Arundinacea* and *Festuca Pratensis*. International Journal of Phytoremediation 12: 535-549.

Tripathy, P. C., Bhatia, B. and Mohanty, P. (1981) Inactivation of chloroplast photosynthetic electron transport activity by Ni^{2+}. Biochimica et Biophysica Acta 638: 217-224.

West, C., Oosterhuis, D. M. and Wullschleger, S. D. (1990) Osmotic adjustment in tissues of tall fescue in response to wather deficit. Environmental and Experimental Botany 30: 149-156.

White, J. F. (1987) Wide speed distribution of endophytes in poaceae. Plant Disease 71: 340-342.

Latch, G. C. M. (1998) Grass endophyte as a model Endophytism in plant pathology Internatinal congress of plant pathology, Edinburgh Scotland.

Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method of Enzymology 148: 320-382.

Linger, P., Ostwald, A. and Haensel, J. (2005) Cannabis sativa L. growing on heavy metal contaminated soil: growth cadmium uptake and photosynthetic. Plant Biology 49: 567-576.

Malinowski, D. P. and Belesky, D. P. (2000) Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science 40: 923-940.

Malinowsky, D., Alloush, G. L. and Belesky, D. (2000) Leaf endophyte *Neotyphodium coenophialum* modifies mineral uptake in tall fescue. Plant and Soil 227: 115-126.

Malinowsky, D. P., Belesky, D. P. and Lewis, G. C. (2005) Abiotic stresses in endophyte grasses. In: *Neotyphodium* in cool-sesson grassrs (eds. Cragi, A. R., Charles, P. W. and Donald, E. S.) pp.187-199.Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.

Manio, T., Stentiford, E. I. and Millner, P. A. (2003) The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. Ecological Engineering 20: 65-74.

Marks, S. and Clay, K. (1996) Physiological response of Festuca arondinacea to fungal endophyte infection. New Phytologist 133:727-733.

Nakazawa, R., Kameda, Y., Ito, T., Michihata, R. and Takenaga, H. (2004) Selection and characterization of nickel-tolerant tobacco cells. Biologia Plantarum 48: 497-502.

Pandey, N. and Sharma, C. P. (2002) Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Science 63: 753-758.

Parida, B. K., Chhibba, I. M. and Nayyar, V. K. (2003) Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. Science Horticulture 98: 113-119.

Prasad, M. N. V., Malec, L. P., Waloszek, B. M. and Strzalka, K. (2001) Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. Plant Science 161: 881-889.

Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Borhidi, A. and Berezain, R. (1996) Nickel-accumulatingplants from the ancient serpentine soils of Cuba. New Phytologist 133: 217-224.

Ren, A., Li, C. and Gao, Y. (2011) Endophytic fungus improves growth and metal uptake of *Lolium arundinaceum* Darbyshire ex. schreb.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 18:29 IRDT on Sunday September 20th 2020